ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of peripheral blood neutrophil survival following treatment with mesenchymal stem cells in rats

Sahar Hamounnavard[1],
Nowruz Delirezh[2],
NahidehAfzalAhangaran[3]

[1]MSc Student of Immunology, Department of Microbiology, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran
[2]Associate Professor, School of Veterinary Medicine, Department microbiology, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Assistant Professor, School of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Urmia University, Urmia, Iran

(Received December 22, 2013; Accepted April20, 2014)

Abstract

Background and purpose: Because of the multipotency and ease of purification, amplification and immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells (MSC), are ideal stem cell sources for cell therapies. This study was done to investigate the effect of rat MSCs on the survival neutrophil.

Materials and methods:MSCs was isolated from rat (6-8 weeks) femoral and tibial bone marrow and cultured in Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM). Then, maturation MSCs were incubated with neutrophils isolated from peripheral blood of rat at 37° C for 1 hour. Neutrophil survival was measured at 6 and 24 hours incubation with MSCs by flow cytometric analysis using An/PI. Data were analyzed by Tukey test at a significant level of ($P < 0.05$).

Results: The 6-hour incubation of neutrophils with MSCs significantly reduced the percentage of normal cells and increased apoptosis compared to controls and increased cell necrosis was not significant in the treated group than in the controls. The 24-hour incubation of neutrophils with MSCs significantly increased the percentage of healthy cells and apoptosis was reduced compared to the control group, and reduced cell necrosis was not significant in the treated groups than in control ($P < 0.05$).

Conclusion: In spite of the clinical importance of MSCs, some biological aspects of them including their self-renewal, proliferation and immune modulatory effects are of great therapeutic potential for cell therapy.

Keywords:Mesenchymal stem cells, neutrophil, survival

J MazandUniv Med Sci 2014; 24(112): 34-40 (Persian).

مجـــلـــه دانـشـــگاه عـــلـــوم پـــزشـــکـــی مـــازنـــدران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۲ اردیبهشت سال ۱۳۹۳ (۴۰-۳۴)

میزان زنده‌مانی نوتروفیل خون محیطی به دنبال تیمار با سلول‌های بنیادی مزانشیمال رت

سحر هامون نورد[1]

نوروز دلیرژ[2]

ناهیده افضل آهنگران[3]

چکیده

سابقه و هدف:سلول‌های بنیادی مزانشیمال (Mesenchymal stem cells یا MSCs) به دلیل سهولت خالص‌سازی، تکثیر و خاصیت تنظیم سیستم ایمنی، منبع مناسبی برای سلول درمانی می‌باشند. این مطالعه به منظور بررسی اثر MSCs بر زنده‌مانی نوتروفیل انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:سلول مزانشیمال از مغز استخوان فمور و تیبیا رت ۸-۶ هفته استحصال شد و در محیط کشت (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)DMEM کشت داده شد. سلول مزانشیمال پس از بلوغ، با نوتروفیل جدا شده از خون محیطی رت به مدت ۱ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. زنده‌مانی نوتروفیل در انکوباسیون‌های ۶ و ۲۴ساعته باMSCs به روش فلوسیتومتری و با استفاده ازنرم‌افزارAn/PI(Annexin/Propidium iodide) اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌هایANOVAو Tukeyدر سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیلقرار گرفتند.

یافته‌ها:در انکوباسیون ۶ساعته نوتروفیل با MSCs، درصد سلول سالم به طور معنی‌داری کاهش و میزان آپوپتوز نسبت به گروه شاهد افزایش یافت و افزایش نکروز سلولی نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود.در انکوباسیون ۲۴ساعته نوتروفیل با MSCs، درصد سلول سالم به طور معنی‌داری افزایش و میزان آپوپتوز نسبت به گروه شاهد کاهش داشت و کاهش نکروز سلولی در گروه‌های تیمار نسبت به گروهشاهد معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵).

استنتاج:علاوه بر اهمیت بالینی MSCs، برخی جنبه‌های مهم بیولوژیک شامل خودنوزایی، تکثیر و اثرات تنظیمی ایمنی آن‌ها، پتانسیل مهمی برای درمان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سلول بنیادی مزانشیمال، نوتروفیل، زنده‌مانی

مقدمه

سلول‌های بنیادی از لحاظ منشأ به دو دسته عمده، سلول‌های بنیادی جنینی و سلول‌های بنیادی بالغ تقسیم می‌شوند(۱). سلول‌های بنیادی مزانشیمال (Mesenchymal stem cellsیاMSCs)از مهم‌ترین سلول‌های بنیادی بالغ می‌باشند که اولین بار در سال ۱۹۶۶ و در مغز استخوان شناسایی شدند(۲).سلول‌های بنیادی بالغ در بسیاری از بافت‌ها و اندام‌ها شامل مغز استخوان، شبکیه، قرنیه چشم، پالپ دندان، مغز، طناب عصبی، کبد، بافت چربی، پوست و روده وجود دارند(۳). ویژگی شاخص سلول‌های بنیادی مزانشیمال، سهولت جداسازی و رشد سریع آن‌ها در شرایطآزمایشگاهی می‌باشد؛ در حالی که همچنان پتانسیل تمایز خود را حفظ می‌کنند و این خود امکان تکثیرآزمایشگاهی این سلول‌ها را در مقادیر زیاد و مناسب جهت اهداف درمانی فراهم می‌سازد(۴).

سلول‌های مزانشیمال دارای نقش تنظیمی در عملکرد سیستم ایمنی می‌باشند. مطالعات زیادی در زمینه نقش تنظیم عملکرد

مولف مسئول: نوروزدلیرژ - ارومیه: دانشکده دام‌پزشکی، گروه میکروبیولوژی E-mail:n.delirezh@urmia.ac.ir
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ایمنی شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲. دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳. استادیار،گروه میکروبیولوژی، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۱۲/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱/۳۱

سیستم ایمنی توسط سلول‌های مزانشیمال بر سیستم ایمنی اکتسابی انجام شده است که می‌توان به مکانیسم عمل مهاری MSCs بر سلول‌های T در تولید سیتوکین و سیتوتوکسیسیتی(۵)، بلوغ و تولید آنتی‌بادی برای سلول‌های B(۶)، تولید سیتوکین و سیتوتوکسیسیتی سلول‌های NK(Natural killer) (۷) و بلوغ، فعالیت و عرضه آنتی‌ژن سلول‌های DC(Dendritic cell) (۸) اشاره کرد، اما در ارتباط با ایمنی ذاتی اطلاعات کمی وجود دارد. به تازگی مطالعات بیشتری بر تأثیر سلول مزانشیم بر سیستم ایمنی ذاتی متمرکز شده‌اند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که تکثیر و عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های ماکروفاژ و دندریتیک، به دنبال تیمار با سلول مزانشیم مهار می‌شود و سلول مزانشیمال انسانیمی‌تواند بربقا و عملکرد نوتروفیل‌ها مؤثر باشد و حتی از آپوپتوز آن‌ها ممانعت کند(۹).

سیستم ایمنی ذاتی اولین خط دفاعی علیه عوامل عفونی است. نوتروفیل‌ها به عنوان یکی از اجزای این سیستم، اولین عامل جهت مقابله با عوامل باکتریایی و قارچی قبل از سیستم ایمنی هومورال و سلولی هستند. اهمیت نوتروفیل در نوتروپنی حاصل از شیمی درمانی یا واکنش به داروهای سیتوتوکسیک و به دنبال نقایص شدید ایمنی نیز مشهود است(۱۰). با توجه به گسترش دانش سلول‌های بنیادی، واکنش سلول مزانشیم با سلول‌های ایمنی (سیستم ذاتی و اکتسابی) حایز اهمیت است و مستلزم مطالعات گسترده‌تر و دقیق‌تر می‌باشد. باتوجه به اهمیت نوتروفیل به عنوان اولین خط دفاعی بدن در سیستم ذاتی، نقش آن در التهاب و کاربرد سلول‌های بنیادی در درمان و به دنبال بررسی‌های پیشین بر تأثیر سلول مزانشیم بر نوتروفیل واقع در مغز استخوان، برهم‌کنش سلول‌های بنیادی جدا شده از مغز استخوان رت و نوتروفیل خون محیطی به منظور سنجش زنده‌مانی سلول نوتروفیل خون محیطیدر این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر در آزمایشگاه کشت سلول بخش ایمنی‌شناسی دانشکده دام‌پزشکی دانشگاه ارومیه، به طور جداگانه و با سه بار تکرار انجام شد.

جداسازی و کشت سلول بنیادی مزانشیم

مراحل کشت و تشخیص بر اساس مطالعه از قبل انجام شده و پروتکل انجام گرفت (۱۱).

حیوانات از طریق قرار گرفتن در ظرف محتوی دی‌اتیل اتر روند بیهوشی را سپری نمودند. سلول مزانشیم از مغز استخوان فمور(Femur) و تیبیا (Tibia) موش صحرایی ۸-۶ هفته و با عمل فلاشینگ سرنگ حاوی محیط کشتDMEM (Dulbecco's modified eagle medium-sigma) استحصال و پس از سانتریفوژ ۱۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جمع‌آوری گردید و پس از شمارش سلولی به همراه ۱۵ درصد FBS (Fetal bovine serum) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن کشت داده شد. اولین تعویض کشت پس از ۷۲ ساعت و سپس هر ۳روز یک‌بار انجام شد. مطالعه حاضر از نظر رعایت اخلاق در پژوهش با دستورالعمل انجمن حمایت از حیوانات مطابقت داشت.

جداسازی نوتروفیل

جداسازی با کاربرد روش انجام گرفت (۱۲). به طور خلاصه، نمونه خون محیطی هپارینه (۱۰ واحد بین‌الملل بر میلی‌لیتر)به طور مستقیم از قلب موش صحرایی گرفته شد. خون را به نسبت ۱:۱ با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد رقیق و سپس به آرامی بر مگلومین (شرکت داروپخش) ۲۵ درصداضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. پلیت سلولی ته فالکون دو مرتبه توسط آب مقطر لیز شد و پس از اضافه نمودن سرم فیزیولوژی ۲/۵۵ درصد، به مدت ۵ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و در نهایت با شستشوی پلیت سلولی با سرم دکستروز ۵ درصد (Sigma-USA) به میزان ۴×۱۰^{۶} میلی‌لیتر همگن شد.

مجاورسازی نوتروفیل با سلول مزانشیم رت

در فلاسک کشت، سلول مزانشیم پس از بلوغ و در روز ۱۴ به تعداد ۱×۱۰^{۶} میلی‌لیتر با سوسپانسیون سلولی نوتروفیل حاوی ۴×۱۰^{۶} میلی‌لیتر در دو زمان ۶ و ۲۴ ساعته داخل

انکوباتور دی‌اکسید کربن‌دار و با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. از طرف دیگر، سوسپانسیون نوتروفیل با محیط کشت به عنوان کنترل آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش زنده‌مانی نوتروفیل در مواجه با (مایع رویی) سلول مزانشیم (کیت Anexin PI-(556570) Cat NO: 51-6710AK)

سلول نوتروفیل انکوبه شده با سلول مزانشیم پس از دو بار شستشو، به مدت ۵دقیقه(با ۲۰۰۰ دور در دقیقه) در ۱ میلی‌لیتر بایندینگ بافر (Binding Buffer) با تراکم $۱۰^۶$×۳ میلی‌لیتر به صورت سوسپانسیون تهیه شد. میزان ۱۰۰میکرولیتر از سوسپانسیون فوق با ۵ میکرولیتر Annexin و ۵ واحد بین‌المللی بر لیتر Prpidium iodide)PI) ترکیب و در محیط تاریک و دمای آزمایشگاه به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گردید. پس از افزودن ۴۰۰ میکرولیتر از محلول بایندینگ بافر به میکروتیوپ، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول فوق با PBS (Phosphate buffered saline) رقیق شد و میزان زنده‌مانی (درصد سلول سالم، آپوپتوز و نکروز شده) توسط دستگاه فلوسیتومتری (DAKO, USA) مورد تحلیل قرار گرفت.

تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ (version 17, SPSS Inc., Chicago, IL)،آزمون ANOVA و آزمون Tukey تحلیل شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excelنسخه ۲۰۱۰ رسم و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار در سطح معنی‌داری (P< ۰/۰۵) بیان شد. تحلیل نمودارهای فلوسیتومتری با استفاده از نرم‌افزار FloMax انجام گرفت.

یافته‌ها

سنجش میزان زنده‌مانی نوتروفیل

الف: انکوباسیون ۶ساعته نوتروفیل با MSCs

جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که انکوباسیون ۶ساعته نوتروفیل با MSCs میزان زنده‌مانی سلول را تحت تأثیر قرار داد؛ به طوری که میزان سلول سالم در مقایسه با گروه شاهد در سطح معنی‌داری کاهش یافت و در مقابل میزان آپوپتوز در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). نکروز سلولی نیز در مقایسه با گروه شاهد افزایش پیدا نمود که این افزایش معنی‌دار نبود (نمودار شماره ۱) (تصویر شماره ۱).

ب: انکوباسیون ۲۴ساعته نوتروفیل با MSCs

با توجه به داده‌های جدول شماره۱، میزان سلول سالم در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت و در مقابل میزان آپوپتوز در انکوباسیون ۲۴ساعته نوتروفیل با MSCs کاهش معنی‌دارپیدا کرد (P<۰/۰۵). نکروز سلولی در این مدت نسبت به گروه شاهد کاهش داشت که این کاهش معنی‌دار نبود (نمودار شماره ۲) (تصویر شماره ۱).

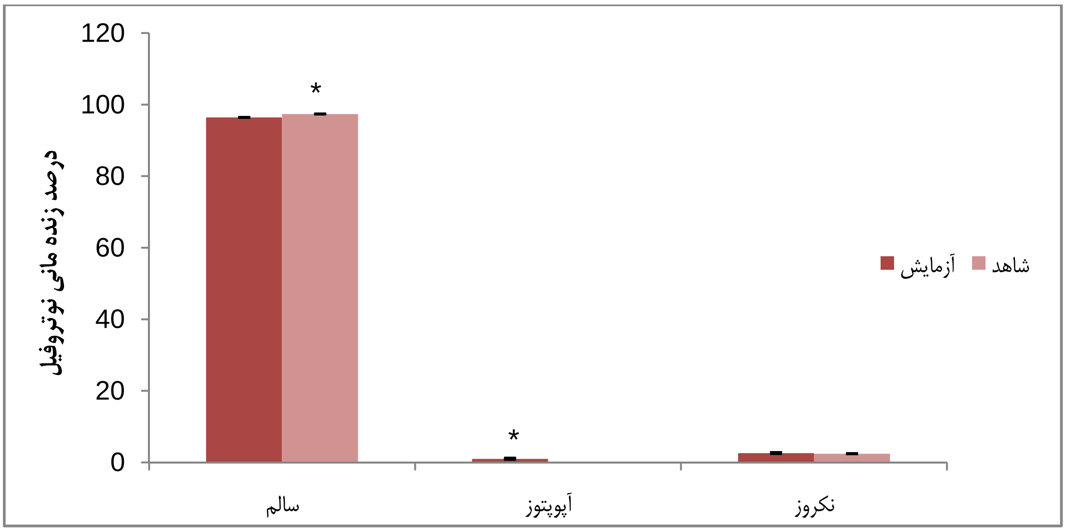
ج: مقایسه زنده‌مانی نوتروفیل مجاور شده با MSCs در انکوباسیون‌های ۶ و ۲۴ ساعته

درصد نوتروفیل سالم در انکوباسیون ۶ساعته نسبت به انکوباسیون ۲۴ساعته کاهش و میزان آپوپتوز و نکروز در مقایسه با انکوباسیون ۲۴ساعته افزایش یافت که این نسبت‌های اختلاف معنی‌دار نبود(نمودار شماره ۳).

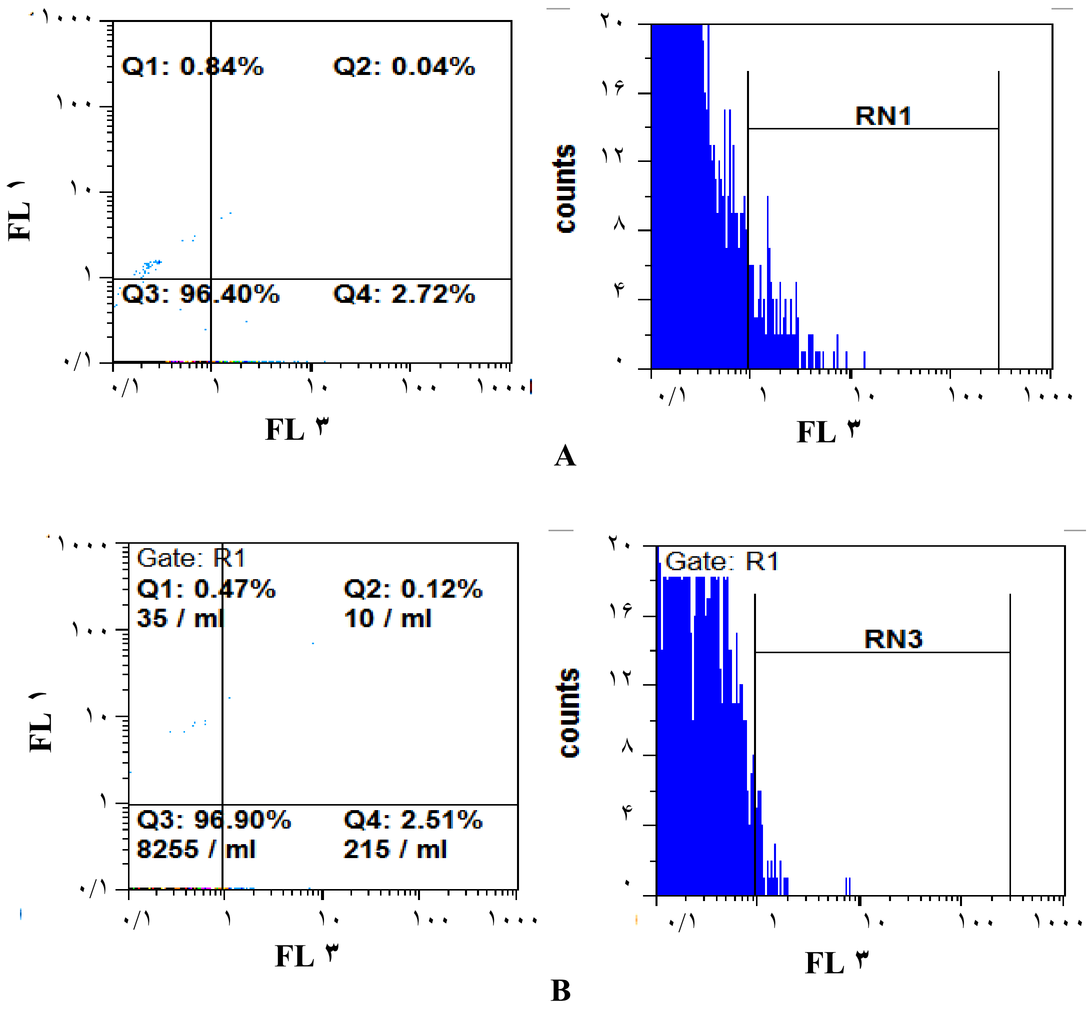
جدول شماره ۱: میزان زنده‌مانی سلول نوتروفیل مجاورشده با Mesenchymal stem cells)MSCs) در انکوباسیون ٦ و ٢٤ساعته

گروه		سالم	آپوپتوز	نکروز
۶ ساعته	شاهد	۹۷/۳۷ ± ۰/۰۵	۰/۲۰ ± ۰/۰۰	۲/۴۲ ± ۰/۰۵
	آزمایش	۹۶/۴۱ ± ۰/۰۱*	۱/۰۰ ±۰/۲۰*	۲/۵۹ ± ۰/۱۹
۲۴ ساعته	شاهد	۹۲/۸۶ ± ۰/۳۹	۶/۷۴±۰/۲۴	۳/۱۸ ± ۱/۰۵
	آزمایش	۹۶/۸۵±۱/۱۲*	۰/۶۴ ± ۰/۱۰*	۲/۵۰ ± ۱/۲۲

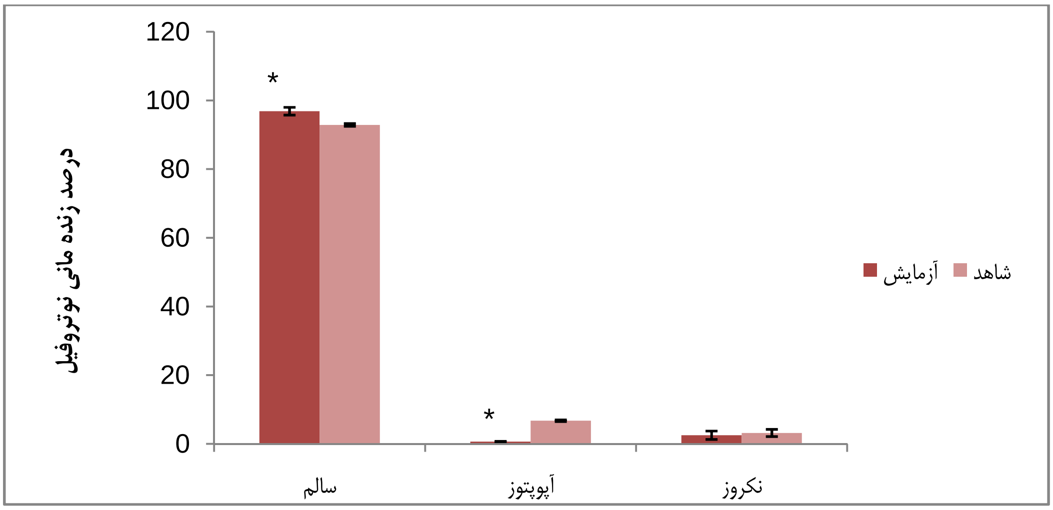
*نشاندهنده معنی‌داری



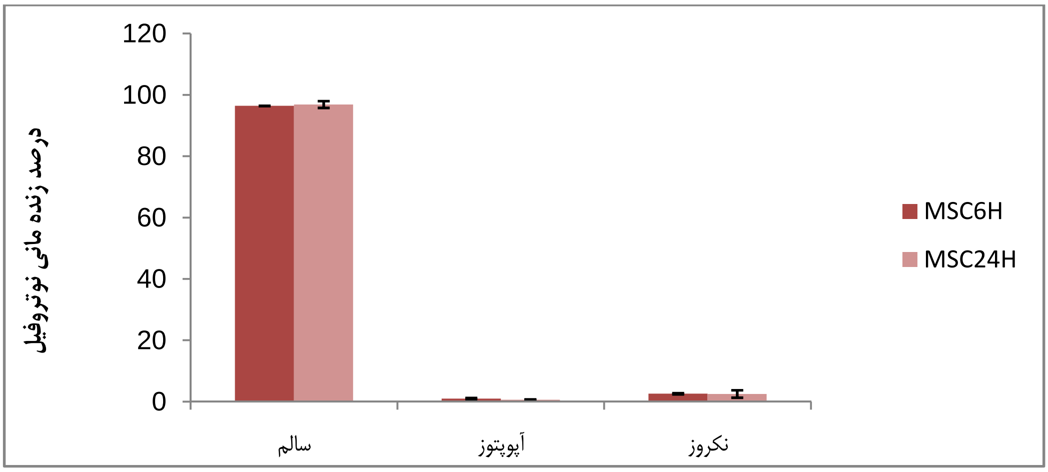
نمودار شماره ۱: میزان زنده‌مانی سلول نوتروفیل با MSCs (Mesenchymal stem cells) در انکوباسیون ٦ساعته (آزمون ANOVA)



تصویر شماره ۱: نمونه‌ای از درصد زنده‌مانی نوتروفیل در انکوباسیون ٦ و ٢٤ ساعته باMSCs (Mesenchymal stem cells)؛
آنالیز فلوسیتومتری، انکوباسیون ٦ ساعته (A) و انکوباسیون ٢٤ ساعته (B)



نمودار شماره ۲: سطح معنی‌داری زنده‌مانی انکوباسیون ۲۴ساعته سلول نوتروفیل با MSCs (Mesenchymal stem cells)



نمودار شماره ۳: مقایسه زنده‌مانی نوتروفیل در انکوباسیون‌های ۶ و ۲۴ ساعته با MSCs (Mesenchymal stem cells) (آزمون ANOVA)

بحث

سلول‌های مزانشیمال دارای نقش تنظیمی عملکرد سیستم ایمنی هستند که در زمینه سیستم ایمنی اکتسابی می‌توان به مواردی مانند مکانیسم عمل مهاری MSCs برای سلول‌های T شامل تولید سیتوکین و سیتوتوکسیسیتی(۹)، بلوغ و تولید آنتی‌بادی برای سلول‌های B(۱۰)، تولید سیتوکین و سیتوتوکسیسیتی سلول‌های NK(۱۱) و بلوغ، فعالیت و عرضه آنتی‌ژن سلول‌های DC(۱۲) اشاره کرد.در ارتباط با تأثیر MSCs بر سیستم ایمنی ذاتی اطلاعات محدودی در دسترس است، اما به تازگی مطالعات بسیاری متوجه اثر MSCs بر ایمنی ذاتی شده است که از آن جمله می‌توان به نقش مهاری MSCs بر تکثیر فعال سلولی و عرضه آنتی‌ژن ماکروفاژها و سلول‌های دندرتیک (۱۳) و خواص آنتی‌باکتریال MSCs از طریق ترشح پپتید کاتلیسیدین hCAP-۱۸/LL-۳۷ اشاره کرد (۱۴).

نتایج این بررسی نشان داد که میزان زنده‌مانی سلول نوتروفیل تحت تأثیر سلول مزانشیم در انکوباسیون‌های ۶ و ۲۴ ساعته قرار گرفت؛ به طوری که در تیمار سلول نوتروفیل با MSCs به مدت ۶ساعت، درصد سلول سالم نسبت به گروه شاهد مجاور شده با محیط کشت، به طور معنی‌داری کاهش یافت و در مقابل میزان آپوپتوز در گروه تیمار، نسبت به گروه شاهد با اختلاف معنی‌داری افزایش پیدا کرد. نکروز سلولی هم مانند آپوپتوز افزایش داشت، اما این افزایش نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود.محققان نشان دادند که انکوباسیون کوتاه

مدت ۴و ۸ ساعته نوتروفیل با سلول مزانشیمال انسانی به همراه ۰، ۱، ۵ و ۱۰ درصد FBS تأثیری بر زنده‌مانی و آپوپتوز آن ندارد (۱۳)، اما نتایج مطالعه حاضر نشان داد که MSCs تاحدی موجب تضعیف زنده‌مانی در مدت تیمار۶ساعته می‌شود که می‌توان آن را به دلیل تضعیف سلول نوتروفیل از طریق ارتباط فیزیکی سلول-سلول با سلول مزانشیمال دانست.

انکوباسیون ۲۴ساعته نوتروفیل با MSCs نتایج متفاوتی را نسبت به انکوباسیون ۶ساعته نشان داد؛ به طوری که درصد سلول سالم در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد با اختلاف معنی‌داری افزایش یافت و به دنبال آن میزان آپوپتوز به طور معنی‌داری کاهش داشت، اما کاهش درصد نکروز سلولی در گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

نوتروفیل‌ها دارای عمر محدودی در محیط آزمایشگاهی هستند که در محیط کشت بیشتر از ۴۸ساعت دچار ۵۰ درصد مرگ سلولی می‌شوند. Maqboolو همکاران بیان داشتند که سلول مزانشیم به همراه غلظت‌های ۰، ۱، ۵ و ۱۰ درصد FBS دارای اثر آنتی‌آپوپتوتیک در انکوباسیون ۲۴ساعته بر نوتروفیل می‌باشد(۱۳).

مطالعه دیگری نشان داد که سلول مزانشیم جداشده از مغز استخوان، میزان آپوپتوز در رده سلولی BV۱۷۳با ۱ و ۵ درصد سرم را کاهش می‌دهد(۱۵) که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد.در مقایسه انکوباسیون نوتروفیل با MSCs در دو زمان ۶ و ۲۴ ساعته، سلول مزانشیم در مدت ۶ساعته باعث تضعیف زنده‌مانی نوتروفیل نسبت به مدت ۲۴ساعته شد. با توجه به تولید عوامل محلول MSCs پس از ۲۴ساعت، نتیجه عکس در مقایسه با انکوباسیون ۶ساعته با MSCs قابل توجیه است. برای این‌که سلول MSCs در مدت زمان کوتاه ۶ساعته اثرگذار باشد؛ مقداری از سلول نوتروفیل از بین می‌رود، ولی بعد از ۲۴ساعت به دلیل وجود عوامل رشد، میزان زنده‌مانی نوتروفیل بیشتر است.

محققان دیگر نیز عنوان کردند که MSCs جداشده از مغز استخوان انسان، آپوپتوز نوتروفیل‌های در حال استراحت و یا فعال شده توسط IL-۸در کشت همراه با سرم طبیعی را کاهش می‌دهد. همچنین بیان داشتند که MSCs از طریق پیام‌رسانی IL-۶(به عنوان مولکول کلیدی در حفظ نوتروفیل از فرایند آپوپتوز) پروتئین‌های پروآپوپتوتیک میتوکندریایی و Bax را کاهش و در مقابل پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک MCL-۱ را افزایش می‌دهد (۹).

اگرچه ارتباط بین MSCs و نوتروفیل بالغ به خوبی در مغز استخوان مشخص نیست، اما مطالعات اخیر نشان می‌دهد که MSCs ساکن در بافت و متمرکز شده در نواحی پیش‌رگی و پیش اندوتلیالی موقعیتی را برای واکنش بین این دو سلول ایجاد می‌کند(۱۶).واکنش بین نوتروفیل محیطی و MSCs مستقر در بافت می‌تواند بر زنده‌مانی و به دنبال آن عملکرد نوتروفیل تأثیر داشته باشد و با توجه به این‌که نوتروفیل اولین عامل سیستم ایمنی در دفاع اولیه است، این برهم‌کنش به لحاظ نقش تنظیمی سلول مزانشیمال مورد توجه و حایز اهمیت است. دانشمندان تلاش می‌کنند تا بتوانند سلول‌های بنیادی بالغین را در سیستم کشت سلول به انواع سلول‌های اختصاصی تبدیل کنند تا از آن‌ها برای درمان بیماری‌ها و صدمات بافتی استفاده نمایند؛ با این وجود، گسترش استفاده از کاربردهای بالینی MSCs به طور معمول در نمونه‌های انسانی، منوط به انجام تحقیقات بیشتر بر مدل‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک محیط بدن انسان و پیگیری نتایج آن در شرایطآزمایشگاهی می‌باشد.

References

1. Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM, Hu WS. Culture systems for pluripotent stem cells. J BiosciBioeng 2005; 100(1): 12-27.
2. Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. J EmbryolExpMorphol 1966; 16(3): 381-90.
3. Musina RA, Egorov EE, Beliavskii AV. [Stem cells: properties and perspectives of therapeutic use]. MolBiol (Mosk) 2004; 38(4): 563-77.
4. Porada CD, Almeida-Porada G. Mesenchymal stem cells as therapeutics and vehicles for gene and drug delivery. Adv Drug Deliv Rev 2010; 62(12): 1156-66.
5. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal

stem cells modulate allogeneic immune cell responses. Blood 2005; 105(4): 1815-22.
6. Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. Blood 2006; 107(1): 367-72.
7. Spaggiari GM, Capobianco A, Becchetti S, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. Blood 2006; 107(4): 1484-90.
8. Jiang XX, Zhang Y, Liu B, Zhang SX, Wu Y, Yu XD, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. Blood 2005; 105(10): 4120-6.
9. Raffaghello L, Bianchi G, Bertolotto M, Montecucco F, Busca A, Dallegri F, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche. Stem Cells 2008; 26(1): 151-62.
10. Quinn MT, Deleo F, Bokoch GM. Neutrophil methods and protocols. New York, NY: Humana Press; 2007.
11. Bittencourt RAC, Pereira HR, Felisbino SL, Murador P, Oliveira APA, Deffune E. Isolation of bone marrow mesenchymal stem cells. ActaOrtop Bras 2006; 14(1): 22-4.
12. Rezapour A, Majidi J. An Improved Method of Neutrophil Isolation in Peripheral Blood of Sheep. Journal of Animal and Veterinary Advances 2009; 8(1): 11-5.
13. Maqbool M, Vidyadaran S, George E, Ramasamy R. Human mesenchymal stem cells protect neutrophils from serum-deprived cell death. Cell BiolInt 2011; 35(12): 1247-51.
14. Krasnodembskaya A, Song Y, Fang X, Gupta N, Serikov V, Lee JW, et al. Antibacterial effect of human mesenchymal stem cells is mediated in part from secretion of the antimicrobial peptide LL-37. Stem Cells 2010; 28(12): 2229-38.
15. Ramasamy R, Lam EW, Soeiro I, Tisato V, Bonnet D, Dazzi F. Mesenchymal stem cells inhibit proliferation and apoptosis of tumor cells: impact on in vivo tumor growth. Leukemia 2007; 21(2): 304-10.
16. Crisan M, Yap S, Casteilla L, Chen CW, Corselli M, Park TS, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. Cell Stem Cell 2008; 3(3): 301-13.